

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-116281

(43)公開日 平成6年(1994)4月26日

(51)Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
C 07 G 11/00	A	8318-4H		
C 12 P 1/06		8931-4B		
// A 61 K 35/74	AFH F	7431-4C		
(C 12 P 1/06				
C 12 R 1:01)		7804-4B		

審査請求 未請求 請求項の数5(全25頁)

(21)出願番号	特願平4-270484	(71)出願人	390027214 社団法人北里研究所 東京都港区白金5丁目9番1号
(22)出願日	平成4年(1992)10月8日	(72)発明者	大村 智 東京都港区白金5丁目9番1号 社団法人 北里研究所内
		(72)発明者	供田 洋 東京都港区白金5丁目9番1号 社団法人 北里研究所内
		(72)発明者	増間 碩郎 東京都港区白金5丁目9番1号 社団法人 北里研究所内
		(74)代理人	弁理士 小林 和恵
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 キサントキノジンA、B、C、Dおよび／またはキサントキノジンE物質並びにその製造法

(57)【要約】

【目的】 この物質はフミコーラ・エスピー、FO-88により生産され、特にポリエーテル系化合物に対し薬剤耐性を獲得したコクシジウムに対して有効な薬剤である。

【構成】 フミコーラ (Humicola) 属に属し、キサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質および／またはキサントキノジンE物質を生産する能力を有する微生物を培地に培養して培養中にキサントキノンジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノンジンC物質、キサントキノジンD物質および／またはキサントキノジンE物質を蓄積せしめ、該培養物からキサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質および／またはキサントキノジンE物質を採取する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 次の理化学的性質を有するキサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質、キサントキノジンE物質からなる群より選ばれたキサントキノジン物質。

[1] キサントキノジンA物質

(1) 元素分析値: C 65. 05%、H 4. 25%、O 30. 70%

(2) 推定分子式:  $C_{31}H_{24}O_{11}$  (高分解能スペクトルによる)

(3) 分子量: 572 (高分解能マススペクトルによる)

(4) 比旋光度:  $[\alpha]_D^{27} + 20^\circ$

(5) 紫外線吸収スペクトル (メタノール中) : 図1に示す通り

(6) 赤外線吸収スペクトル (四塩化炭素中) : 図2に示す通り

(7) 溶媒に対する溶解性: メタノール、エタノール、アセトン、酢酸エチルエステル、クロロホルムに可溶、n-ヘキサンに難溶性、水に不溶である

(8) 塩基性、酸性、中性の区別: 弱酸性

(9) 物質性状: 黄色粉末

[2] キサントキノジンB物質

(1) 元素分析値: C 65. 02%、H 4. 24%、O 30. 74%

(2) 推定分子式:  $C_{31}H_{24}O_{11}$  (高分解能スペクトルによる)

(3) 分子量: 572 (高分解能マススペクトルによる)

(4) 比旋光度:  $[\alpha]_D^{27} + 48^\circ$

(5) 紫外線吸収スペクトル (メタノール中) : 図5に示す通り

(6) 赤外線吸収スペクトル (四塩化炭素中) : 図6に示す通り

(7) 溶媒に対する溶解性: メタノール、エタノール、アセトン、酢酸エチルエステル、クロロホルムに可溶、n-ヘキサンに難溶性、水に不溶である

(8) 塩基性、酸性、中性の区別: 弱酸性

(9) 物質性状: 黄色粉末

[3] キサントキノジンC物質

(1) 元素分析値: C 65. 03%、H 4. 25%、O 30. 72%

(2) 推定分子式:  $C_{31}H_{24}O_{11}$  (高分解能スペクトルによる)

(3) 分子量: 572 (高分解能マススペクトルによる)

(4) 比旋光度:  $[\alpha]_D^{27} + 40^\circ$

(5) 紫外線吸収スペクトル (メタノール中) : 図9に示す通り

(6) 赤外線吸収スペクトル (四塩化炭素中) : 図10に示す通り

に示す通り

(7) 溶媒に対する溶解性: メタノール、エタノール、アセトン、酢酸エチルエステル、クロロホルムに可溶、n-ヘキサンに難溶性、水に不溶である

(8) 塩基性、酸性、中性の区別: 弱酸性

(9) 物質性状: 黄色粉末

[4] キサントキノジンD物質

(1) 元素分析値: C 65. 03%、H 4. 26%、O 30. 71%

(2) 推定分子式:  $C_{31}H_{24}O_{11}$  (高分解能スペクトルによる)

(3) 分子量: 572 (高分解能マススペクトルによる)

(4) 比旋光度:  $[\alpha]_D^{27} + 224^\circ$

(5) 紫外線吸収スペクトル (メタノール中) : 図13に示す通り

(6) 赤外線吸収スペクトル (四塩化炭素中) : 図14に示す通り

(7) 溶媒に対する溶解性: メタノール、エタノール、アセトン、酢酸エチルエステル、クロロホルムに可溶、n-ヘキサンに難溶性、水に不溶である

(8) 塩基性、酸性、中性の区別: 弱酸性

(9) 物質性状: 黄色粉末

[5] キサントキノジンE物質

(1) 元素分析値: C 65. 01%、H 4. 25%、O 30. 74%

(2) 推定分子式:  $C_{31}H_{24}O_{11}$  (高分解能スペクトルによる)

(3) 分子量: 572 (高分解能マススペクトルによる)

(4) 比旋光度:  $[\alpha]_D^{27} + 258^\circ$

(5) 紫外線吸収スペクトル (メタノール中) : 図17に示す通り

(6) 赤外線吸収スペクトル (四塩化炭素中) : 図18に示す通り

(7) 溶媒に対する溶解性: メタノール、エタノール、アセトン、酢酸エチルエステル、クロロホルムに可溶、n-ヘキサンに難溶性、水に不溶である

(8) 塩基性、酸性、中性の区別: 弱酸性

(9) 物質性状: 黄色粉末

【請求項2】 フミコーラ属に属し、キサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質および/またはキサントキノジンE物質を生産する能力を有する微生物を培地に

培養して培養中にキサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質および/またはキサントキノジンE物質を蓄積せしめ、該培養物からキサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質および/またはキサントキノジンE物

質を採取することを特徴とするキサントキノジンA、B、C、Dおよび／またはキサントキノジンE物質の製造法。

【請求項3】 フミコーラ属に属し、キサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質および／またはキサントキノジンE物質を生産する能力を有する微生物が、フミコーラ・エスピー、FO-888 (*Humicola* sp. FO-888 FERM P-13160) である請求項2記載の製造法。

【請求項4】 フミコーラ属に属し、キサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質および／またはキサントキノジンE物質を生産する能力を有する微生物。

【請求項5】 微生物がフミコーラ・エスピー、FO-888 である請求項4記載の微生物。

#### 【発明の詳細な説明】

##### 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は養鶏産業上、重要な疾病であるコクシジウム症に対する治療剤ならびに予防剤として有用なキサントキノジンA、B、C、Dおよび／またはキサントキノジンE物質並びにその製造法に関する。

##### 【0002】

【従来の技術】 従来、抗コクシジウム剤としては、サルファ剤、キノリン剤、抗チアミン剤、抗生物質等が実用化されており、最近では、ポリエーテル系抗生物質、例えば、モネンシン、サリノマイシン、ラサロシド等が広く使用されている。

##### 【0003】

【発明が解決しようとする課題】 しかし、これらの薬剤に耐性のコクシジウムが出現し、その効果が弱まっており、これらに代わる抗コクシジウム剤が要望されている。本発明の目的は、上記の観点から、薬剤非耐性のコクシジウムは勿論、特にポリエーテル系化合物に対して耐性を獲得したコクシジウムに対して有効な薬剤を提供するものである。

##### 【0004】

【課題を解決するための手段】 一般に薬剤の交叉耐性は、構造の類似あるいは作用機序の類似する場合に成立し、従来のコクシジウム剤と構造的に、あるいは、作用機序が相違する化合物はコクシジウム症の治療剤あるいは予防剤として有用である。本発明らは、従来の薬剤に耐性を獲得したコクシジウム原虫に対しても有効な新規薬剤を自然界から見出すべく種々の研究を続け、モネンシン耐性のコクシジウム原虫を試験生物として、微生物の生産する代謝産物の中から探索した結果、新たに青森県八戸市の土壌から分離したFO-888菌株の培養液中にコクシジウムに有効な物質が產生されることを見出した。

【0005】 次いで、該培養物から抗コクシジウム活性物質を分離、精製したところ、後記の理化学的性状を有する物質をキサントキノジン (*Xanthoquinodin*) A物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質およびキサントキノジンE物質は從来全く知られていないことから、キサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質およびキサントキノジンE物質（以下、総称してキサントキノジン物質と呼称することもある）と命名した。本発明は、かかる知見に基いて完成されたものであって、後記の物理化学的性状を有するキサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質および／またはキサントキノジンE物質からなる群より選ばれたキサントキノジンA、B、C、Dおよび／またはキサントキノジンE物質を提供するものである。

【0006】 更に、本発明は、フミコーラ属に属し、キサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質および／またはキサントキノジンE物質を生産する能力を有する微生物を培地に培養して培養物にキサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質および／またはキサントキノジンE物質を蓄積せしめ、該培養物からキサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質および／またはキサントキノジンE物質を採取することを特徴とするキサントキノジンA、B、C、Dおよび／またはキサントキノジンE物質の製造法を提供するものである。

【0007】 本発明のキサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質およびキサントキノジンE物質の物理化学的性状を述べると次のとおりである。

###### 〔1〕キサントキノジンA物質

〔1〕元素分析値：C 65.05%、H 4.25%、O 30.70%

〔2〕分子式：C31H24O11

〔3〕分子量：

計算値 572.1317

実測値 572.1324

〔4〕比旋光度  $[\alpha]_D^{27} + 20^\circ$  (C=0.1、メタノール中)

〔5〕紫外外部吸収スペクトル：アセトニトリル中で測定した紫外外部吸収スペクトルは図1に示す通りであり、232、279、378 nm付近に特徴的な吸収極大を示す。

〔6〕赤外部吸収スペクトル：CCl4溶液による赤外部吸収スペクトルは図2に示す通りであり、1783、1752、1605 cm<sup>-1</sup>に吸収帯を有する。

- (7) 溶剤に対する溶解性：メタノール、エタノール、アセトン、酢酸エチルエスセル、クロロホルムに可溶、n-ヘキサンに難溶性、水に不溶である
- (8) 塩基性、酸性、中性の区別：弱酸性
- (9) 物質性状：黄色粉末
- (10) 核磁気共鳴スペクトル：バリアンXL-400、400MHz、NMRスペクトロメータをそれぞれ

用いて重クロロホルム溶液中で測定した<sup>1</sup>H-NMRは図3に示す通りであり、重メタノール溶液中で測定した<sup>13</sup>C-NMRは図4に示す通りである。又、水素および炭素の化学シフトは表1に示す通りである。

【0008】

【表1】

炭素数No.	<sup>13</sup> Cシフト	<sup>1</sup> Hシフト
C-2	83.99	
C-3	80.72	4.83 (1H, dd, J=7.0, 7.0)
C-3-OH		
C-4	21.97	2.36 (2H, m)
C-5	27.55	2.54 (1H, m) 2.60 (1H, m)
C-6	175.30	
C-6-OH		
C-7	39.34	2.93 (2H, d, J=17.0) 3.12
C-8	193.21	
C-9	105.71	
C-10	158.52	
C-10-OH		12.00 (1H, s)
C-11	116.04	
C-12	147.70	
C-13	110.28	6.15 (1H, s)
C-14	157.52	
C-15	168.65	
C-16	53.75	3.75 (3H, s)
C-1'	195.34	
C-2'	132.25	
C-3'	121.11	7.58 (1H, d, J=1.0)
C-4'	148.31	
C-5'	124.33	7.08 (1H, d, J=1.0)
C-6'	161.42	
C-6'-OH		11.68 (1H, s)
C-7'	115.01	
C-8'	182.89	
C-8'-OH		14.80 (1H, s)
C-9'	106.50	
C-10'	188.93	
C-11'	37.84	4.77 (1H, dd, J=6.2, 0.1)
C-12'	131.31	6.48 (1H, dd, J=8.4, 6.2)
C-13'	132.87	6.69 (1H, dd, J=8.4, 0.1)
C-14'	49.95	
C-15'	39.03	2.91 (1H, d, J=17.0) 3.08 (1H, d, J=17.0)
C-16'	22.11	2.45 (3H, s)

【0009】 [2] キサントキノジンB物質

(1) 元素分析値: C 65.02%、H 4.24%、O

30.74%

(2) 分子式: C<sub>31</sub>H<sub>24</sub>O<sub>11</sub>

(3) 分子量:

計算値 572.1317

実測値 572.1317

(4) 比旋光度 [α]<sub>D</sub><sup>27</sup>+488° (C=0.1、メタノール中)

(5) 紫外部吸収スペクトル: アセトニトリル中で測定した紫外部吸収スペクトルは図5に示す通りであり、226、273、333 nm付近に特徴的な吸収極大を示す。

(6) 赤外部吸収スペクトル: CC<sub>l4</sub>による赤外部吸

スペクトルは図6に示す通りであり、1735、1680、1605、1565 cm<sup>-1</sup>に吸収帯を有する。

(7) 溶剤に対する溶解性：メタノール、エタノール、アセトン、酢酸エチルエスティル、クロロホルムに可溶、n-ヘキサンに難溶性、水に不溶である

(8) 塩基性、酸性、中性：弱酸性

(9) 物質性状：黄色粉末

(10) 核磁気共鳴スペクトル：バリアンXL-40

0、400 MHz、NMRスペktrometarをそれぞれ用いて重クロロホルム溶液中で測定した<sup>1</sup>H-NMRは図7に示す通りであり、重メタノール溶液中で測定した<sup>13</sup>C-NMRは図8に示す通りである。又、水素および炭素の化学シフトは表2に示す通りである。

【0010】

【表2】

炭素数No.	<sup>13</sup> Cシフト	<sup>1</sup> Hシフト
C-2	85.39	
C-3	71.73	4.45 (1H, dd, J=12.3,4.9)
C-3-OH		
C-4	23.87	2.13 (1H, m) 2.24 (1H, m)
C-5	27.71	2.70 (2H, m)
C-6	178.73	
C-6-OH		13.95 (1H, s)
C-7	101.60	
C-8	186.67	
C-9	105.68	
C-10	160.24	
C-10-OH		11.09 (1H, s)
C-11	113.72	6.14 (1H, s)
C-12	146.79	
C-13	114.80	
C-14	154.98	
C-15	168.91	
C-16	53.29	3.74 (3H, s)
C-1'	195.46	
C-2'	132.25	
C-3'	121.09	7.57 (1H, s)
C-4'	147.65	
C-5'	124.35	7.08 (1H, s)
C-6'	161.20	
C-6'-OH		11.4 (1H, s)
C-7'	114.00	
C-8'	181.74	
C-8'-OH		14.93 (1H, s)
C-9'	106.88	
C-10'	189.88	
C-11'	38.94	4.86 (1H, d, J=6.2)
C-12'	131.45	6.54 (1H, dd, J=8.3,6.2)
C-13'	132.39	6.69 (1H, d, J=8.3)
C-14'	50.00	
C-15'	39.33	2.93 (1H, d, J=17.0) 3.04 (1H, d, J=17.0)
C-16'	22.06	2.45 (3H, s)

【0011】 [3] キサントキノジンC物質

(1) 元素分析値: C 65.03%、H 4.25%、O

30.72%

(2) 分子式: C<sub>31</sub>H<sub>24</sub>O<sub>11</sub>

(3) 分子量:

計算値 572.1317

実測値 572.1316

(4) 比旋光度 [α]<sub>D</sub><sup>27</sup>+404° (C=0.1、メ

タノール中)

(5) 紫外部吸収スペクトル: アセトニトリル中で測定した紫外部吸収スペクトルは図9に示す通りであり、230、273、335 nm付近に特徴的な吸収極大を示す。

(6) 赤外部吸収スペクトル: CCl<sub>4</sub>溶液による赤外部吸収スペクトルは図10に示す通りであり、1735、1680、1600、1570 cm<sup>-1</sup>に吸収帯を有す

る。

- (7) 溶剤に対する溶解性：メタノール、エタノール、アセトン、酢酸エチルエステル、クロロホルムに可溶、n-ヘキサンに難溶性、水に不溶である
- (8) 塩基性、酸性、中性：弱酸性
- (9) 物質性状：黄色粉末
- (10) 核磁気共鳴スペクトル：バリアンXL-40

0、400MHz、NMRスペクトロメータをそれぞれ用いて重クロロホルム溶液中で測定した<sup>1</sup>H-NMRは図11に示す通りであり、重メタノール溶液中で測定した<sup>13</sup>C-NMRは図12に示す通りである。又、水素および炭素の化学シフトは表3に示す通りである。

【0012】

【表3】

炭素数No.	<sup>13</sup> Cシフト	<sup>1</sup> Hシフト
C-2	83.95	
C-3	66.84	4.27 (1H, dd, J=3.9, 1.9)
C-3-OH		
C-4	23.00	1.91 (1H, dddd, J=14.0, 12.0, 6.8, 1.9) 2.12 (1H, ddd, J=14.0, 6.8, 3.9)
C-5	24.41	2.38 (1H, dd, J=20.0, 6.8) 2.81 (1H, ddd, J=20.0, 12.0, 6.8)
C-6	179.79	
C-6-OH		13.9 (1H, s)
C-7	100.14	
C-8	186.66	
C-9	105.08	
C-10	158.70	
C-10-OH		11.93 (1H, s)
C-11	116.53	
C-12	146.50	
C-13	110.41	6.07 (1H, s)
C-14	156.13	
C-15	170.95	
C-16	53.49	3.69 (1H, s)
C-1'	195.52	
C-2'	132.21	
C-3'	120.97	7.56 (1H, d, J=1.0)
C-4'	147.52	
C-5'	124.32	7.07 (1H, d, J=1.0)
C-6'	161.41	
C-6'-OH		11.69 (1H, s)
C-7'	115.10	
C-8'	182.76	
C-8'-OH		14.80 (1H, s)
C-9'	106.49	
C-10'	189.07	
C-11'	37.85	4.79 (1H, dd, J=6.5, 1.0)
C-12'	131.44	6.47 (1H, dd, J=8.3, 6.5)
C-13'	132.73	6.66 (1H, dd, J=8.3 1.0)
C-14'	50.01	
C-15'	38.93	2.88 (1H, d, J=17.8) 3.04 (1H, d, J=17.8)
C-16'	22.06	2.45 (3H, s)

【0013】(4) キサントキノジンD物質

(1) 元素分析値: C 65.03%、H 4.26%、O

30. 71%

(2) 分子式:  $C_{31}H_{24}O_{11}$

(3) 分子量:

計算値 572. 1317

実測値 572. 1319

(4) 比旋光度  $[\alpha]_D^{27} +224^\circ$  ( $C=0.1$ 、メタノール中)

(5) 紫外部吸収スペクトル: アセトニトリル中で測定した紫外部吸収スペクトルは図13に示す通りであり、230、273、335 nm付近に特徴的な吸収極大を示す。

(6) 赤外部吸収スペクトル:  $CCl_4$ による赤外部吸収スペクトルは図14に示す通りであり、1735、1685、1605、1570  $\text{cm}^{-1}$ に吸収帯を有する。

(7) 溶剤に対する溶解性: メタノール、エタノール、アセトン、酢酸エチルエスセル、クロロホルムに可溶、n-ヘキサンに難溶性、水に不溶

(8) 塩基性、酸性、中性の区別: 弱酸性

(9) 物質性状: 黄色粉末

(10) 核磁気共鳴スペクトル: バリアンXL-400、400 MHz、NMRスペクトラメータをそれぞれ用いて重クロロホルム溶液中で測定した $^1H$ -NMRは図15に示す通りであり、重メタノール溶液中で測定した $^{13}C$ -NMRは図16に示す通りである。又、水素および炭素の化学シフトは、表4に示す通りである。

【0014】

【表4】

炭素数No.	<sup>13</sup> Cシフト	<sup>1</sup> Hシフト
C-2	84.41	
C-3	71.82	4.25 (1H, dd, J=12.5, 5.0)
C-3-OH		
C-4	23.85	2.05 (1H, m) 2.14 (1H, m)
C-5	27.58	2.66 (2H, m)
C-6	178.32	
C-6-OH		13.8 (1H, s)
C-7	101.18	
C-8	186.42	
C-9	105.09	
C-10	158.55	
C-10-OH		11.80 (1H, s)
C-11	116.00	
C-12	147.02	
C-13	110.45	6.13 (1H, s)
C-14	157.10	
C-15	169.78	
C-16	53.35	3.69 (3H, s)
C-1'	195.69	
C-2'	132.24	
C-3'	120.97	7.56 (1H, s)
C-4'	147.56	
C-5'	124.36	7.08 (1H, s)
C-6'	161.41	
C-6'-OH		11.72 (1H, s)
C-7'	115.12	
C-8'	182.76	
C-8'-OH		14.82 (1H, s)
C-9'	106.73	
C-10'	188.97	
C-11'	37.90	4.77 (1H, d, J=6.5)
C-12'	131.60	6.48 (1H, dd, J=8.0, 6.5)
C-13'	132.64	6.66 (1H, d, J=8.0)
C-14'	50.01	
C-15'	38.98	2.94 (1H, d, J=18.0) 3.02 (1H, d, J=18.0)
C-16'	22.08	2.45 (3H, s)

【0015】 [4] キサントキノジンE物質

(1) 元素分析値: C 65.01%、H 4.25%、O

30.74%

(2) 分子式: C<sub>31</sub>H<sub>24</sub>O<sub>11</sub>

(3) 分子量:

計算値 572.1317

実測値 572.1301

(4) 比旋光度 [α]<sub>D</sub> <sup>27</sup>+258° (C=0.1、メ

タノール中)

(5) 紫外部吸収スペクトル: アセトニトリル中で測定した紫外部吸収スペクトルは図17に示す通りであり、226、274、334 nm付近に特徴的な吸収極大を示す。

(6) 赤外部吸収スペクトル: CCl<sub>4</sub>溶液による赤外部吸収スペクトルは図18に示す通りであり、1735、1680、1605、1565 cm<sup>-1</sup>に吸収帯を有す

る。

- (7) 溶剤に対する溶解性：メタノール、エタノール、アセトン、酢酸エチルエスセル、クロロホルムに可溶、n-ヘキサンに難溶性、水に不溶
- (8) 塩基性、酸性、中性の区別：弱酸性
- (9) 物質性状：黄色粉末
- (10) 核磁気共鳴スペクトル：バリアンXL-40

0、400MHz、NMRスペクトロメータをそれぞれ用いて重クロロホルム溶液中で測定した<sup>1</sup>H-NMRは図19に示す通りであり、重メタノール溶液中で測定した<sup>13</sup>C-NMRは図20に示す通りである。又、水素および炭素の化学シフトは、表5に示す通りである。

【0016】

【表5】

炭素数No.	<sup>13</sup> Cシフト	<sup>1</sup> Hシフト
C-2	84.63	
C-3	66.91	4.48 (1H, dd, J=4.0, 1.9)
C-3-OH		
C-4	22.96	2.05 (1H, m) 2.18 (1H, ddd, J=6.5, 4.0)
C-5	24.45	2.38 (1H, dd, J=19.5, 7.0) 2.85 (1H, ddd, J=19.5, 12.0 7.0)
C-6	180.42	
C-6-OH		14.10 (1H, s)
C-7	100.18	
C-8	186.83	
C-9	105.60	
C-10	160.39	
C-10-OH		11.27 (1H, s)
C-11	113.96	
C-12	146.54	
C-13	114.25	
C-14	153.80	
C-15	170.93	
C-16	53.59	3.76 (3H, s)
C-1'	195.44	
C-2'	132.27	
C-3'	121.08	7.57 (1H, d, J=1.5)
C-4'	147.78	
C-5'	124.35	7.09 (1H, d, J=1.0)
C-6'	161.45	
C-6'-OH		11.70 (1H, s)
C-7'	115.05	
C-8'	183.24	
C-8''-OH		14.98 (1H, s)
C-9'	107.00	
C-10'	188.46	
C-11'	38.51	4.79 (1H, dd, J=6.5, 1.0)
C-12'	131.29	6.49 (1H, dd, J=8.0, 6.2)
C-13'	132.90	6.69 (1H, dd, J=8.0, 1.0)
C-14'	49.98	
C-15'	38.86	2.95 (1H, d, J=17.8) 3.04 (1H, d, J=17.8)
C-16'	22.11	2.45 (3H, s)

【0017】キサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質および/またはキサントキノジンE物質を生産する能力を有する微生物（以下、キサントキノジン物質生産菌と称する）は、フミコーラ属に属するが、例えば本発明者らが分離したフミコーラ属に属するフミコーラ・エスピード・F O - 888 菌株は、本発明の最も有効に使用される菌株の一例であって、本菌株の菌学的性状を示す次の通りである。

【0018】本菌株はポテトデキストロース寒天培地、ツアベック寒天培地、コーンミール寒天培地、マルトエキス寒天培地およびY p S s 寒天培地で良好に生育（コ

ロニ一直径5.5～8.0mm、25℃、14日間)し、褐色～黒色の分生子を多量に着成する。栄養菌糸はほとんど無色である。分生子形成様式はアレウロ型で栄養菌糸上に直生したり、短い分生子柄上に生じる。分生子は1細胞で形は、球形から亜球形で、多くは単生であるが、2～3個も連鎖もみられる。色は暗褐色～黒色、分生子の直径は1.4～1.7μmであった。前記のすべての培地には、菌の生育に伴う分泌液および菌核の形成は観察されなかった。

【0019】本菌株の生理学的性状は、以下の通りであった。

(1) 生育温度範囲：8～32℃、至適生育温度範囲：17～30℃

(2) 生育pH範囲：4～11、至適生育pH範囲：5～8

(3) 好気性、嫌気性の区別：好気性

上記FO-888株の培養上の諸性状、形態的特徴、生理学的性状に基づき既知菌種との比較を試みた結果、本菌株をフミコーラ(Humicola)属に属する一菌株と同定し、フミコーラ・エスピー・FO-888と命名した。本菌株はフミコーラ・エスピー、FO-888として工業技術院微生物工業技術研究所に寄託されている。(FERM P-13160号)。

【0020】以上、キサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質およびキサントキノジンE物質生産菌について説明したが、菌の一般的性状として菌学上の性状はきわめて変異し易く、一定したものではなく、自然的にあるいは通常行われる紫外線照射または変異誘導体、例えばN-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン、エチルメタンスルホネートなどを用いる人工的変異手段により変異することは周知の事実であり、このような人工的変異株は勿論、自然変異株も含め、フミコーラ属に属し、キサントキノジンA物質およびキサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質およびあるいはキサントキノジンE物質を生産する能力を有する菌株はすべて本発明に使用することができる。また、細胞融合、遺伝子操作などの細胞工学的に変異させた菌株もキサントキノジン物質生産菌として包含される。

【0021】本発明においては、先ずフミコーラ属に属するキサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質およびまたはキサントキノジンE物質生産菌が培地に培養される。本菌の培養においては、通常真菌の培養法が一般に用いられる。培地としては、微生物が同化し得る炭素源、資化し得る窒素源、さらには必要に応じて無機酸塩などを含有させた栄養培地が使用される。同化し得る炭素源としては、ブドウ糖、ショ糖、糖蜜、デキストリン、セルロースなどが単独または組み合わせて用いら

れる。

【0022】すなわち、炭素源としては、たとえばグルコース、グリセロール、フラクトース、マルトース、マンニトール、キシロース、ガラクトース、リボース、澱粉またはその加水分解物等の炭水化物が使用できる。その濃度は、通常培地に対して0.1%～5%が望ましい。また、グルコン酸、ビルビン酸、乳酸、酢酸等の各種有機酸、グリシン、グルタミン酸、アラニン等の各種アミノ酸、さらにはメタノール、エタノール等のアルコール類やノルマルパラフィン等の非芳香族炭化水素、あるいは植物もしくは動物性の各種油脂等も使用可能である。

【0023】窒素源としては、例えはアンモニア、塩化アンモニウム、リン酸アンモニウム、硫酸アンモニウム、硝酸アンモニウム等の各種無機酸あるいは有機酸のアンモニウム塩類、尿素、ペプトン、NZ-アミン、肉エキス、酵母エキス、乾燥酵母、コーンスチーブリカーパー、カゼイン加水分解物、フイッシュミールあるいはその消化物、大豆粉あるいはその消化物、脱脂大豆あるいはその消化物、加水分解物などの含窒素有機物質、さらには、グリシン、グルタミン酸、アラニン等の各種アミノ酸が使用可能である。

【0024】無機物としては、例えは各種リン酸塩、硫酸マグネシウム、食塩、さらには微量の重金属塩が使用される。また、栄養要求性を示す変異株を用いる場合には、当然その栄養要求性を満足させる物質を培地に加えなければならないが、この種の栄養素は、天然物を含む培地を使用する場合には、とくに添加を必要としない場合がある。

【0025】培養は通常振とうまたは通気攪拌培養などの好気的条件下で行うのがよい。工業的には深部通気攪拌培養が好ましい。培養のpHはたとえば5.0～8.0であるが、中性付近で培養を行うのが好ましい。培養温度は20～40℃で行い得るが、通常は26～32℃(好ましくは27℃付近)に保つのがよい。培養時間は、液体の場合、通常3～6日間培養を行うと、本キサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質およびキサントキノジンE物質が蓄積されるので、培養中の蓄積量が最大に達した時に、培養を終了すればよい。

【0026】これらの培地組成、培地の液性、培養温度、通気量などの培養条件は使用する菌株の種類や外部の条件などに応じて好ましい結果が得られるように適宜調節、選択されることはいうまでもない。液体培養において、発泡があるときは、シリコン油、植物油、界面活性剤などの消泡剤を適宜使用できる。

【0027】このようにして得られた培養物に蓄積される本キサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質およびキサントキノジンE物質は菌体内および培養滤液

中に含有されるので、培養物を遠心分離して培養液と菌体とに分離し、各々から本キサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質およびキサントキノジンE物質を採取するのが有利である。キサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質およびキサントキノジンE物質を採取するには、通常微生物の培養物から代謝物を採取するのに用いられる手段が単独あるいは任意の順序に組み合わせて、または反復して用いられる。

【0028】すなわち、例えば抽出濾過、遠心分離、透析、濃縮、乾燥、凍結、吸着、脱着、各種溶媒に対する溶解度の差を利用する例えば沈澱、結晶化、再結晶、転溶、向流分配法、クロマトグラフイー等の手段が用いられる。培養液からキサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質およびキサントキノジンE物質を採取するには、培養液を酢酸エチル等の非親水性有機溶媒で抽出するか、あるいは培養液あるいは菌体抽出液を活性炭、アルミナ、多孔性合成高分子樹脂、イオン交換樹脂等に吸着させ、酢酸エチル等の溶出溶媒で溶出し、得られた抽出液を減圧濃縮後、ヘキサン等の有機溶媒で抽出すればよい。得られた粗物質は、さらに脂溶性物質の精製において通常用いられている公知の方法、例えばシリカゲル、アルミナ等の担体を用いるカラムクロマトグラフイーあるいはODS担体を用いる逆相クロマトグラフイーにより精製することができる。

【0029】以上に述べた本発明のキサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質およびキサントキノジンE物質の鶏に対する抗コクシジウム活性については以下の通りである。

#### 【0030】鶏コクシジウム生育阻害物質

モネンシンに耐性の鶏コクシジウム、エイメリアテネラのオーシストを用い、宿主であるハムスター腎由来細胞（BHK-21細胞）上での生育阻害作用を、大永らの方法（大永、石井：日本獣医師会雑誌、31, 592-596 (1978年)）に準じて測定した結果、本キサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質およびキサントキノジンE物質の生育阻害作用濃度は、何れも $0.02\mu g/ml$ であった。なお、本キサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質およびキサントキノジンE物質は、宿主細胞であるハムスター腎由来細胞（BHK-21細胞）に対してはエイメリア・テネラの生育阻害活性を示す濃度、 $0.02\mu g/ml$ において細胞毒性は認められなかった。

【0031】一方、既知鶏コクシジウム生育阻害剤モネンシンについても同様の投与実験を行った。その結果、

モネンシンでは、コクシジウム生育阻害活性は認められず、 $0.02\mu g/ml$ 投与で宿主細胞に毒性が認められた。本キサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質およびキサントキノジンE物質は、既知鶏コクシジウム生育阻害剤モネンシンに比して低毒性であるということができる。

#### 【0032】

【発明の効果】以上のように、本キサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質およびキサントキノジンE物質は、ポリエーテル系抗生物質モネンシンに耐性のコクシジウム原虫の生育阻害活性を有することから、コクシジウム病の寛解に導くことが可能となる。また、公知の抗コクシジウム剤の薬物の効果を著しく持続せしめる併用剤として用いることもできる。

#### 【0033】

【実施例】次に、実施例を挙げて本発明を具体的に説明する。

##### 実施例 1

500ml容三角フラスコにグルコース2.0%、酵母エキス0.2%、ペプトン0.5%、硫酸マグネシウム0.05%、リン酸1カリウム0.1%、寒天0.1%を含む液体培地(pH6.0)100mlを分注し、121℃で15分間蒸気滅菌した。これに寒天斜面培地に生育させたフミコーラ・エスピー、FO-888(FERM P-13160)株の菌体を白金耳にて無菌的に接種し、27℃で2日間振とう培養して種培養液を得た。次いで、500ml容三角フラスコ3本にそれぞれシューコロース2.0%、グルコース1.0%、コーンスチーピリカー1.0%、肉エキス0.5%、リン酸1カリウム0.1%、炭酸カルシウム0.3%、寒天0.1%を含む液体培地(pH6.0)100mlを分注し、121℃で15分間蒸気滅菌した。これらに蒸気の種培養液1mlを接種し、27℃、7日間振とう培養した。

【0034】この培養液(300ml)を遠心分離して上清と菌体に分け、上清に0.2%リン酸存在下、等量の酢酸エチルを加えて攪拌した後、遠心分離して酢酸エチル層と水層を分ける操作を3回繰り返した。菌体に0.2%リン酸存在下、等量のアセトンを加えて抽出し、減圧濃縮してアセトンを留去して残った水層に酢酸エチルを加えて酢酸エチル抽出液を得た。上清および菌体の酢酸エチル抽出液を合わせて濃縮乾固して粗物質289.3mgを得た。この粗物質を逆相(ODS)系の高速クロマトグラフイー(展開溶媒、アセトニトリル:0.2%リン酸=8:2)にかけ、キサントキノジンA物質11mg、キサントキノジンB物質17mg、キサントキノジンC物質73mg、キサントキノジンD物質16mgおよびキサントキノジンE物質2mgをそれぞれ

得た。

#### 【0035】実施例 2

500ml容三角フラスコにグルコース2.0%、酵母エキス0.2%、ペプトン0.5%、硫酸マグネシウム0.05%、リン酸1カリウム0.1%、寒天0.1%を含む液体培地(pH6.0)100mlを分注し、121℃で15分間、蒸気滅菌した。これに寒天斜面培地に生育させたフミコーラ・エスピー、FO-888株の菌体を白金耳に接種し、27℃2日間振とう培養して種培養液を得た。次いで、301容ジャー培養槽にシュークロース2.0%、グルコース1.0%、コーンスチーブリカーレ1.0%、肉エキス0.5%、リン酸1カリウム0.1%、炭酸カルシウム0.3%、寒天0.1%を含む液体培地(pH6.0)20lを仕込み、121℃で20分間、蒸気滅菌した。これに上記の種培養液200mlを接種し、27℃6日間通気攪拌培養した。この培養液181を遠心分離して上清と菌体に分け、上清には0.2%リン酸存在下に181の酢酸エチルを加えて攪拌した後、遠心分離して酢酸エチル層を分離した。

【0036】菌体には0.2%リン酸存在下181のアセトンを加えて得た抽出液を減圧濃縮してアセトンを留去した後、水層に酢酸エチル15lを加え攪拌下した

後、遠心分離して酢酸エチル層を分離した。上清及び菌体の酢酸エチル抽出液を合わせて濃縮乾固して粗物質18.5gを得た。この粗物質3gをシリカゲルクロマトグラフィー(展開溶媒:クロロホルム:MeOH)により粗精製物を得、次いでODS担体による逆相クロマトグラフィー(展開溶媒、アセトニトリル:0.2%リン酸)にかけて、キサントキノジンA物質120mg、キサントキノジンB物質185mg、キサントキノジンC物質75mg、キサントキノジンD物質168mgおよびキサントキノジンE物質25mgをそれぞれ得た。

#### 【0037】実施例 3

キサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質およびキサントキノジンE物質の鶏コクシジウム生育阻害活性:モネンシンに耐性の鶏コクシジウム、エイメリアテネラのオーシストを用い、宿主であるハムスター腎由来細胞(BHK-21細胞)上での生育阻害作用を、大永らの方法(大永、石井:日本獣医師会雑誌、31, 592-596(1978年))に準じて測定した結果を表6に示した。

#### 【0038】

【表6】 抗コクシジウム活性

化 合 物	濃 度 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	
	抗コクシジウム活性	細胞毒性
キサントキノジン A	$\geq 0.02$	$\geq 2.0$
キサントキノジン B	$\geq 0.02$	$\geq 2.0$
キサントキノジン C	$\geq 0.02$	$\geq 2.0$
キサントキノジン D	0.02	$>0.02$
キサントキノジン E	$\geq 0.02$	$\geq 2.0$
モネンシン	-	$>0.02$

【0039】キサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質およびキサントキノジンE物質の鶏コクシジウムに対する生育阻害作用濃度は、いずれも約0.02 $\mu\text{g}$ であった。なお、本キサントキノジンA物質、キサントキノジンB物質、キサントキノジンC物質、キサントキノジンD物質およびキサントキノジンE物質は、宿主細胞であるハムスター腎由来細胞(BHK-21細胞)に対してはエイメリア・テネラの生育阻害活性を示す濃度、0.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$ において細胞毒性は認められなかった。一方、既知の鶏コクシジウム生育阻害剤モネンシンについても同様の投与実験を行った。その結果、モネンシンではコクシジウム阻害活性は認められず、0.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 投与で宿主細胞に毒性が認められた。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】キサントキノジンA物質の紫外線吸収スペクト

ルである。(メタノール溶液として測定)

【図2】キサントキノジンA物質の赤外線吸収スペクトルである。(CCl<sub>4</sub>中)

【図3】キサントキノジンA物質のプロトン核磁気共鳴スペクトルである。(クロロホルム溶液)

【図4】キサントキノジンA物質のプロトン核磁気共鳴スペクトルである。(重メタノール溶液)

【図5】キサントキノジンB物質の紫外線吸収スペクトルである。(メタノール溶液として測定)

【図6】キサントキノジンB物質の赤外線吸収スペクトルである。(CCl<sub>4</sub>中)

【図7】キサントキノジンB物質のプロトン核磁気共鳴スペクトルである。(クロロホルム溶液)

【図8】キサントキノジンB物質のプロトン核磁気共鳴スペクトルである。(重メタノール溶液)

【図9】キサントキノジンC物質の紫外線吸収スペクト

ルである。（メタノール溶液として測定）

【図10】キサントキノジンC物質の赤外線吸収スペクトルである。（ $\text{CCl}_4$ 中）

【図11】キサントキノジンC物質のプロトン核磁気共鳴スペクトルである。（クロロホルム溶液）

【図12】キサントキノジンC物質のプロトン核磁気共鳴スペクトルである。（重メタノール溶液）

【図13】キサントキノジンD物質の紫外線吸収スペクトルである。（メタノール溶液として測定）

【図14】キサントキノジンD物質の赤外線吸収スペクトルである。（ $\text{CCl}_4$ 中）

【図15】キサントキノジンD物質のプロトン核磁気共

鳴スペクトルである。（クロロホルム溶液）

【図16】キサントキノジンD物質のプロトン核磁気共鳴スペクトルである。（重メタノール溶液）

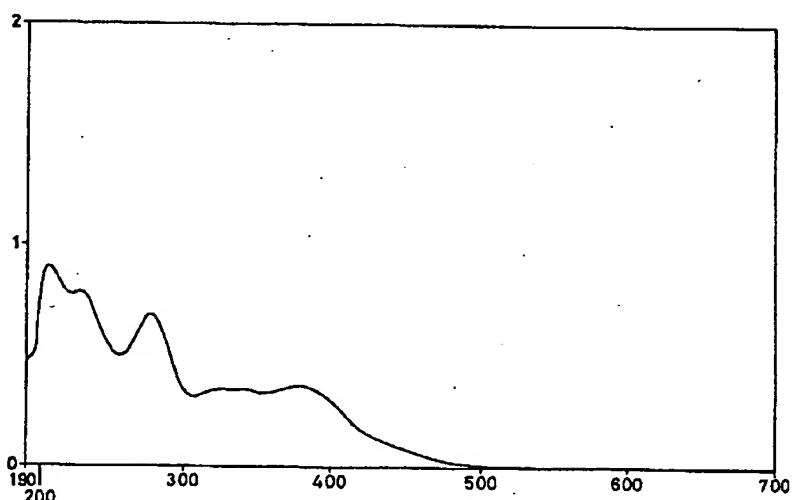
【図17】キサントキノジンE物質の紫外線吸収スペクトルである。（メタノール溶液として測定）

【図18】キサントキノジンE物質の赤外線吸収スペクトルである。（ $\text{CCl}_4$ 中）

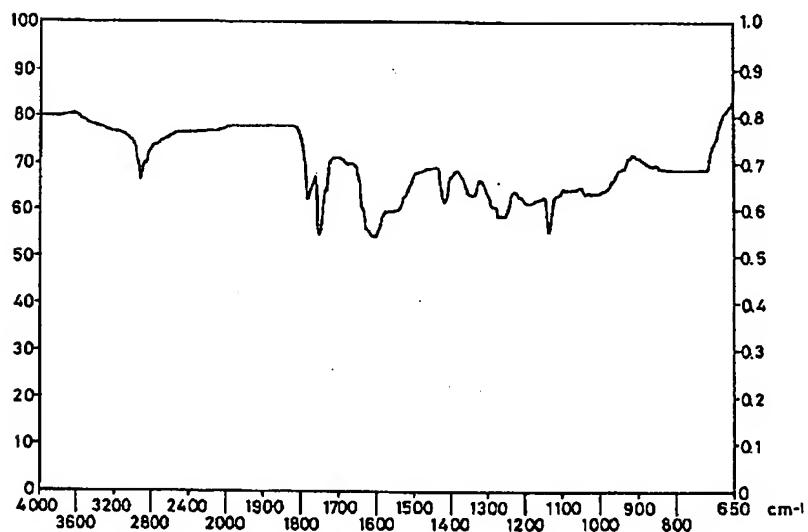
【図19】キサントキノジンE物質のプロトン核磁気共鳴スペクトルである。（クロロホルム溶液）

【図20】キサントキノジンE物質のプロトン核磁気共鳴スペクトルである。（重メタノール溶液）

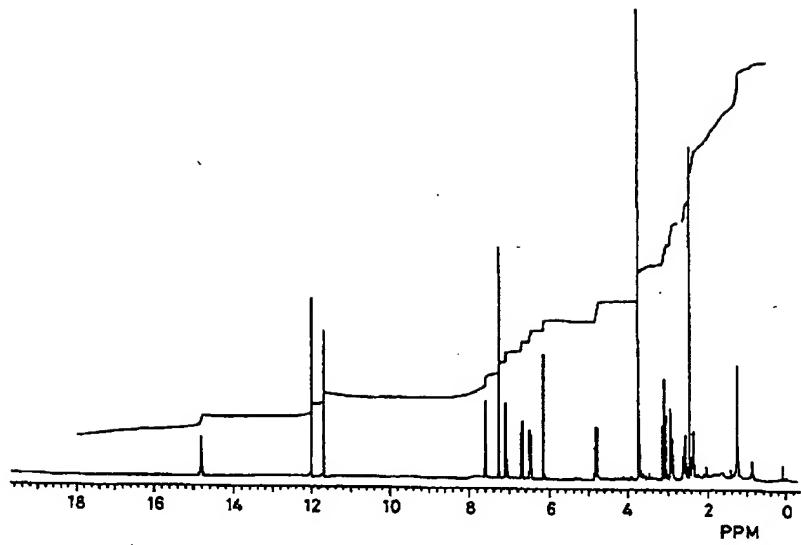
【図1】



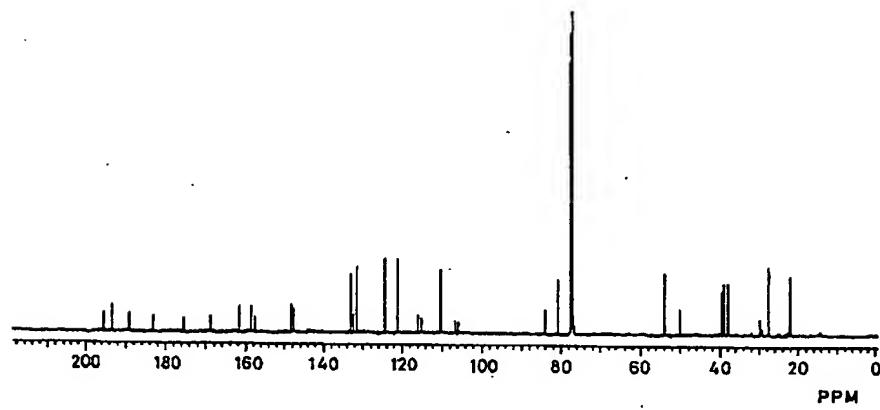
【図2】



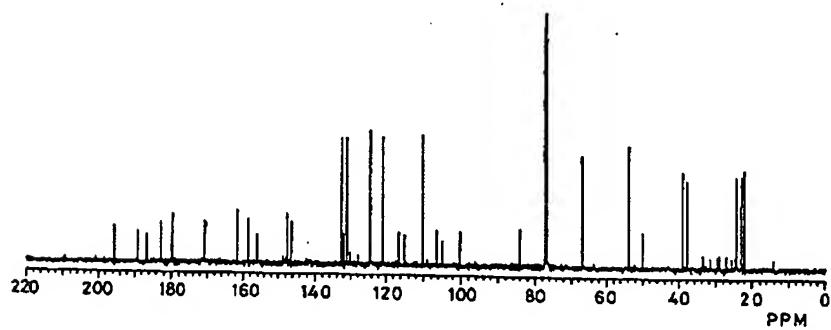
【図3】



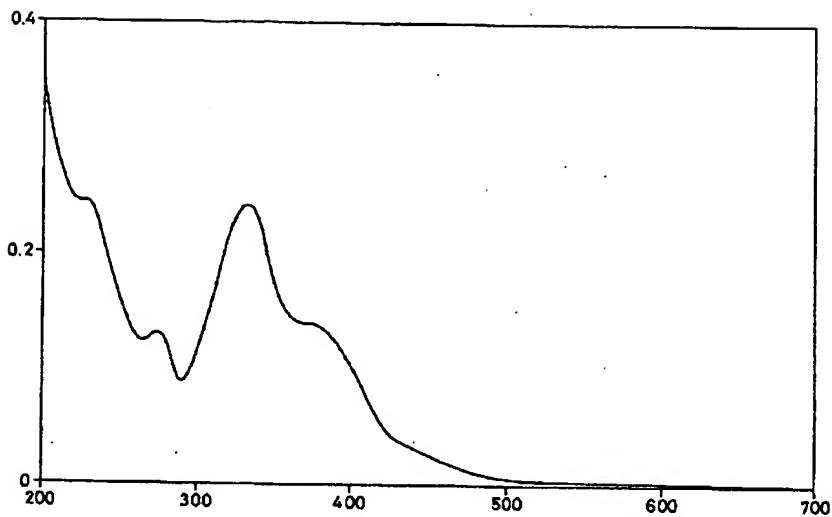
【図4】



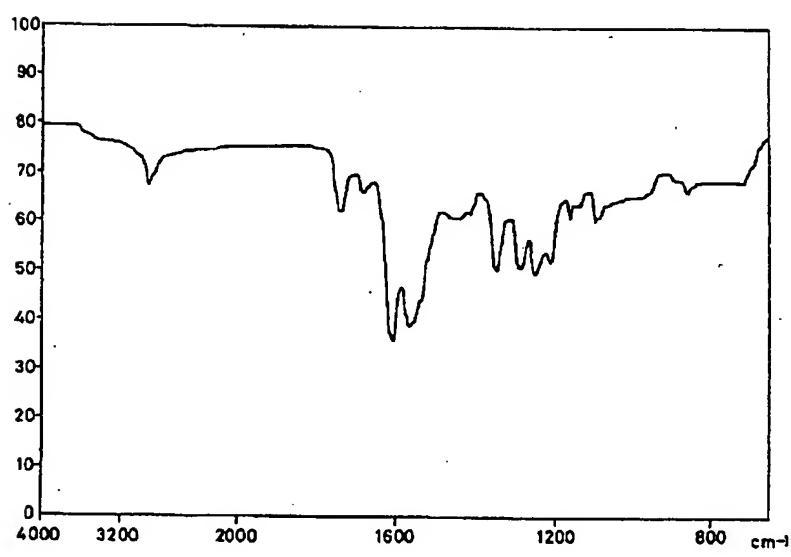
【図12】



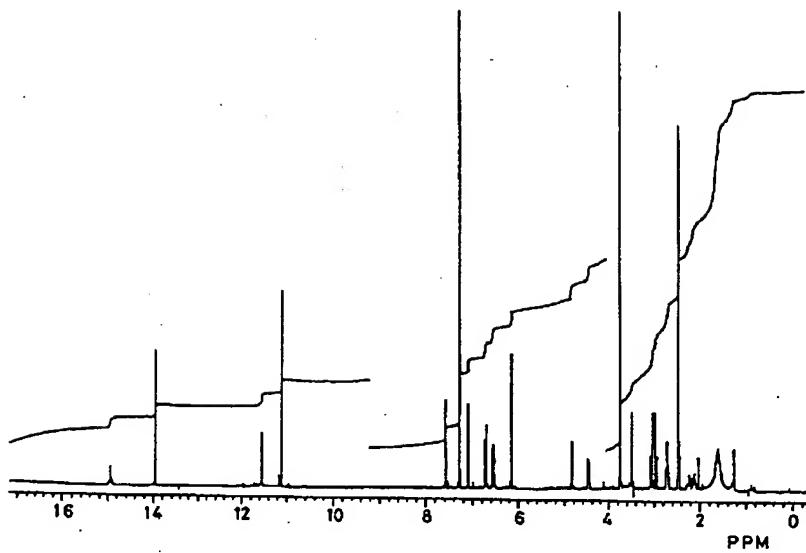
【図5】



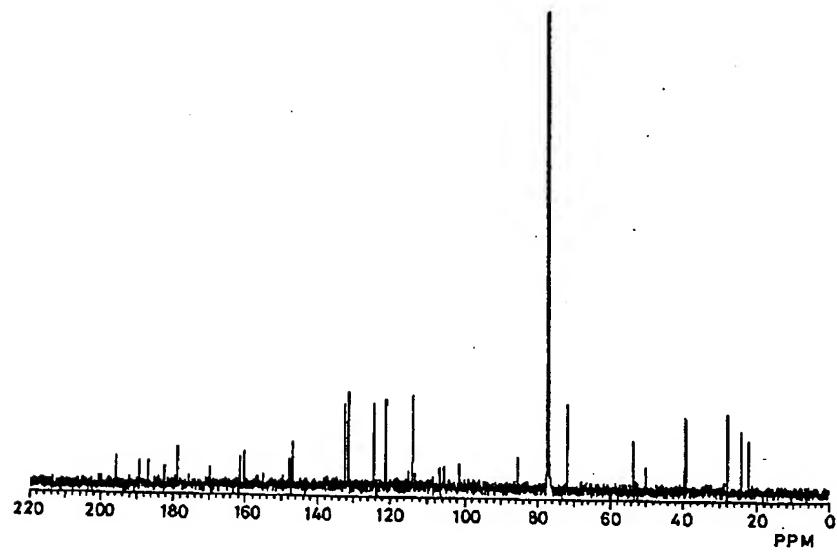
【図6】



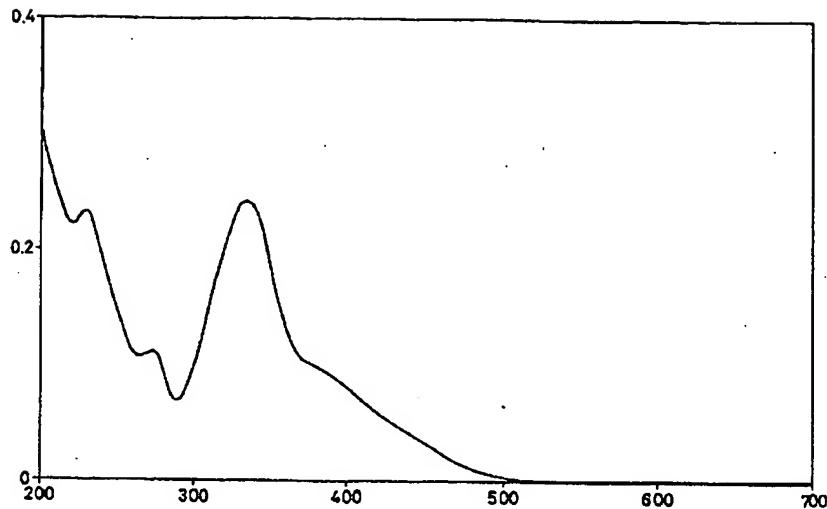
【図7】



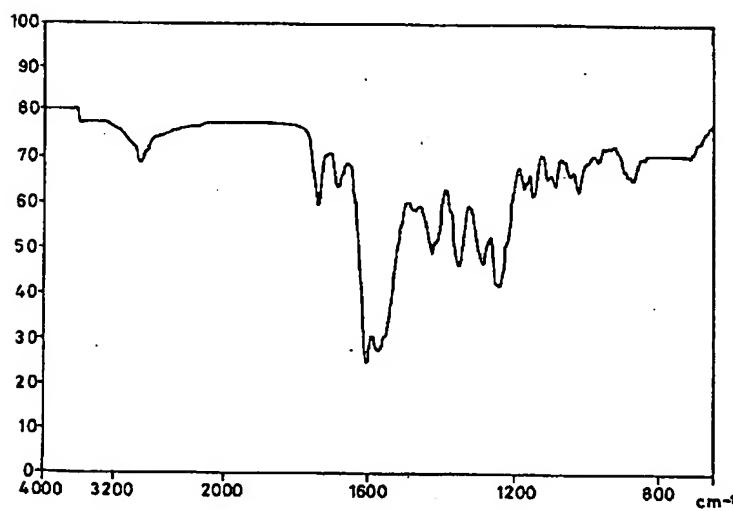
【図8】



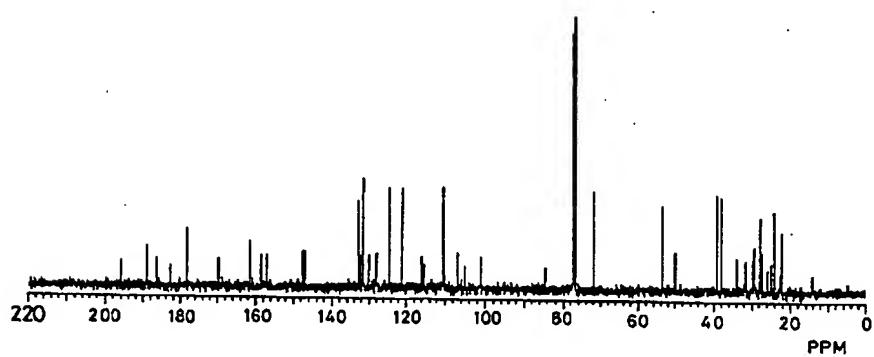
【図9】



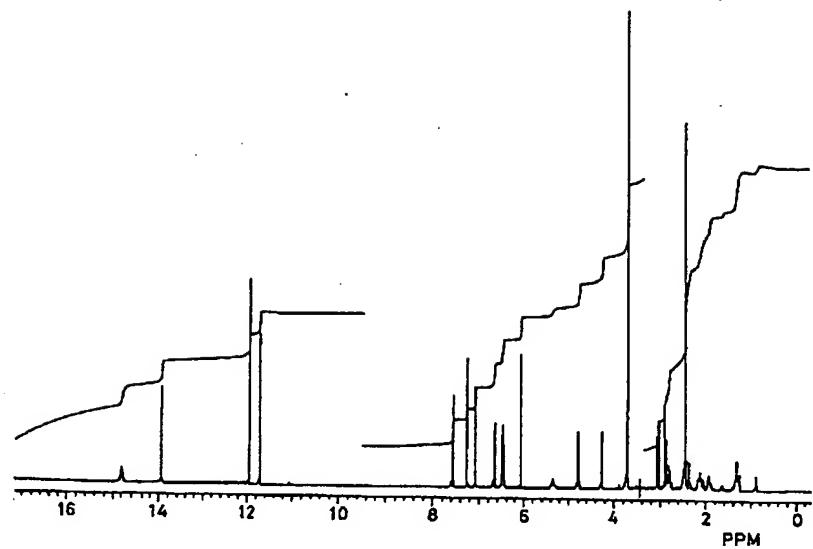
【図10】



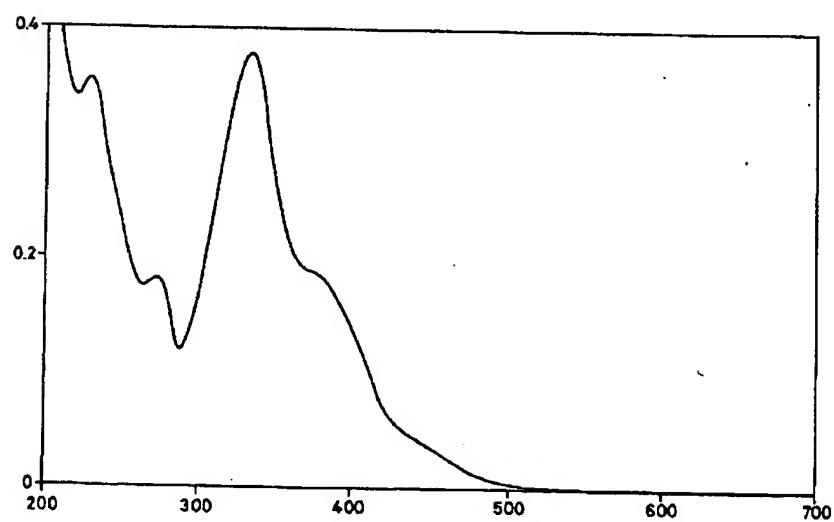
【図16】



【図11】



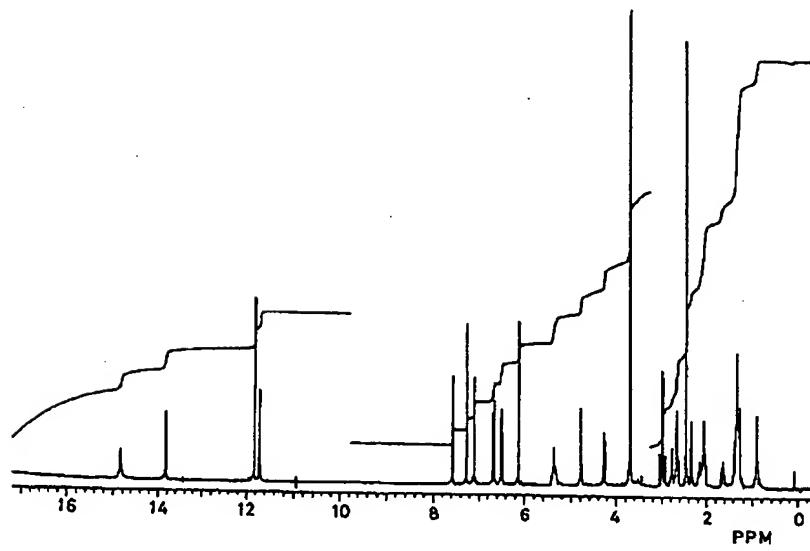
【図13】



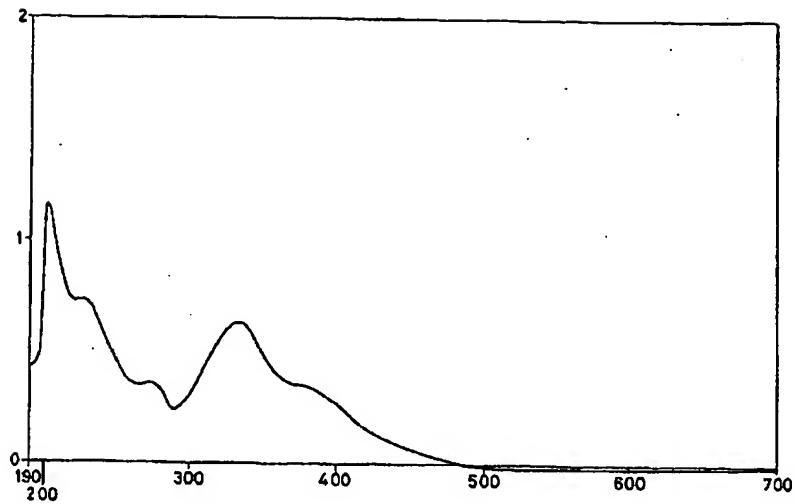
【図14】



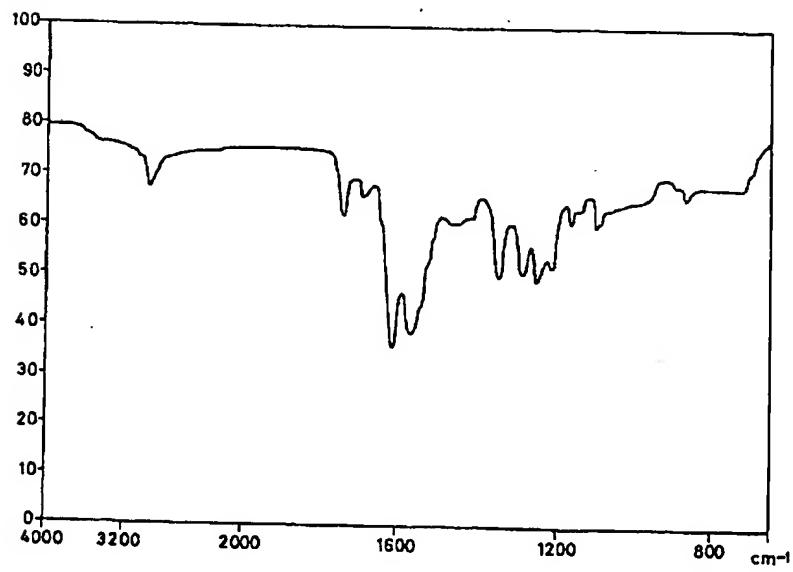
【図15】



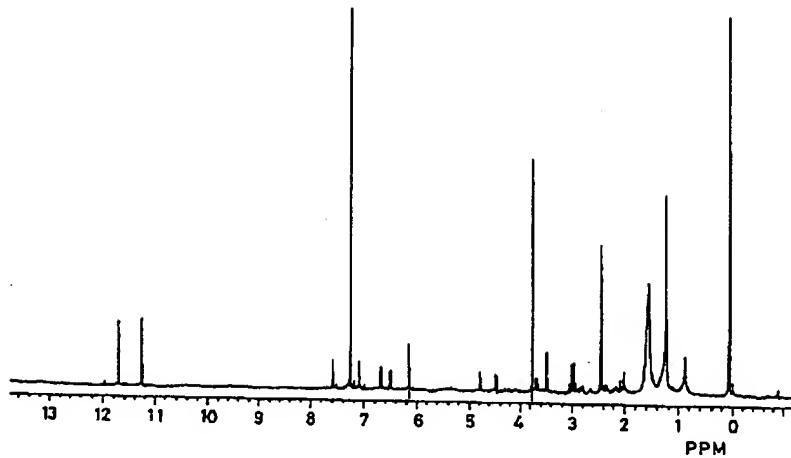
【図17】



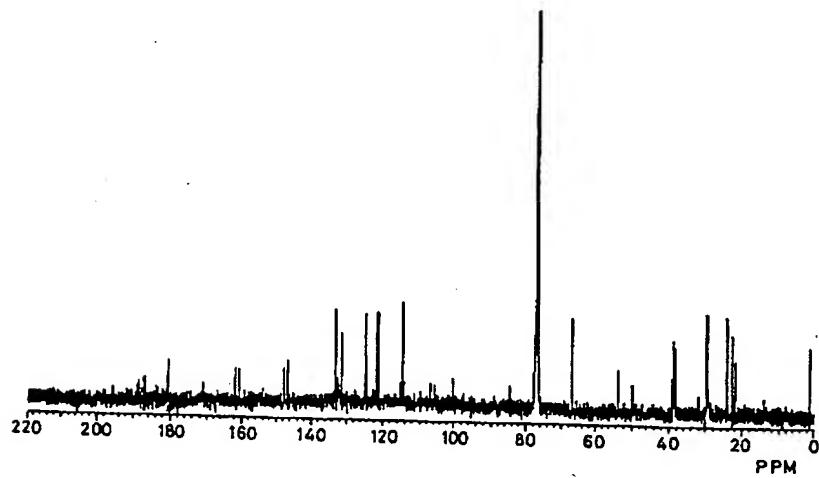
【図18】



【図19】



【図20】



---

フロントページの続き

(72)発明者 羽田 勝二  
東京都港区白金5丁目9番1号 社団法人  
北里研究所内

(72)発明者 岩井 謙  
東京都港区白金5丁目9番1号 社団法人  
北里研究所内